Ein Beitrag zur Kenntnis antipeptisch wirkender Stoffe im Blutserum und zur quantitativen Bestimmung des Antipepsin.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Königl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Eugen Theoder Burger

aus

Geroldsgrün.

ACAD. MED. BAT. BIBL.

Würzburg
Buchdruckerei Franz Staudenraus
1915.

Gedruckt mit Genehmigung der mediz. Fakultät
der K. Universität Würzburg.

Referent: **Herr Prof. Dr. Lüdke.**

Dem Andenken meiner Eltern

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549815_0197

Die Fermente haben ihr goldenes Zeitalter. Immer neue Fermente werden entdeckt und Wunderbares wird von ihnen berichtet. Den Fermenten werden dann wieder Antifermente entgegengestellt, die den Körper vor der Wirkung der ersteren zu schützen haben. So wurde auch ein Antipepsin nachgewiesen und man glaubt damit die alte Frage gelöst zu haben, warum der Magen sich nicht selbst verdaut.

Über Antipepsin ist schon mehrfach eingehend gearbeitet worden. In seinen Arbeiten für den Kongress russischer Ärzte und Naturforscher 1901 wies Danilewsky[1]) nach, dass sowohl im Magenschleim, wie in der Epithel- und in den tieferen Schichten der Magenwand, sich Antipepsin vorfindet, überhaupt auch in allen übrigen Geweben, wenn auch in geringerer Menge. Dieses lässt sich in der Wärme mit Säuren extrahieren und ist kurz kochbeständig, demnach also kein Enzym. Hensel[2]) fand Antipepsin in allen Schichten der Magenwand bei Schwein und Hund, in Leber, in Milz und Herzen. Anhaltendes Kochen zerstörte die Substanz nicht, dagegen schwächten Säuren und Alkalien, letztere mehr, in bestimmter Konzentration die antipeptische Wirkung. Er kommt zu dem Schlusse, dass Antipepsin eine organische Substanz ist, augenscheinlich nicht vom Eiweisstypus.

[1]) Arbeiten d. 11. Kongr. russ. Naturforscher und Ärzte 1901, Ref. Maly's Jahresberichte f. Tierchemie 1903 p. 586.

[2]) Dissertat. Petersburg 1903. Malys Jahresberichte 1903 p. 556.

Unabhängig von diesen Ergebnissen veröffentlichte 1913 Weinland[1]) in München 2 Arbeiten über Antifermente. In der ersten der beiden Arbeiten berichtet er über Stoffe, die er durch Extraktion aus Darmparasiten erhielt. Diese üben einen „Fibrinschutz“ aus. Er brachte nämlich diese Extrakte zusammen mit einer selbst bereiteten Pepsinlösung, und liess durch dieses Gemenge Fibrinflocken verdauen. Dabei fand er, dass im Gegensatz zu seinen Vergleichsproben, die keine Parasitenextrakte enthielten, das Fibrin längere Zeit, bis zu mehreren Tagen, vor vollkommener Verdauung geschützt blieb. Diese antipeptische Kraft erhöhte sich nach Zusatz von Dinatriumphosphat. Unter Toluol aufbewahrt, zeigten diese Extrakte und ihre Wirkung eine sehr grosse Haltbarkeit, bis über 7 Monate bei Zimmertemperatur. Kochen bis zu 1 $^1/_2$ Minuten zerstörte die Wirkung. Bei längere Zeit dauernder Erwärmung bis zu 60° zeigte sich keine Beeinträchtigung der Wirkung, eine starke Beeinträchtigung trat bei längerdauerndem Erwärmen bis zu 80° zutage. Bei 10 Minuten langem Erwärmen auf 95° zeigte sich keine antifermentative Wirkung mehr. Weinland fand auch, dass Extrakte gewaschener und zerriebener Erythrocyten antipeptisch wirken. Dieser letzte Befund steht im Einklange mit einem schon lange vorher veröffentlichten Befund von Schnappauf,[2]) nach welchem in Leber, Muskel defibriniertem Blut und im Blutserum antipeptisch wirkende Stoffe vorhanden seien.

Des Weiteren beschäftigte sich Schwarz[3]) mit der Antipepsinfrage. Er stellte Antipepsin dar auf 2

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. Bd. 44. 1903 p. 1 u. p. 45.

[2]) Beiträge f. d. Physiologie des Pepsins. Inaugural-Dissertation, Rostock 1888.

[3]) Hofmeisters Beiträge Bd. 6 1905 p. 524.

Arten. Einmal, indem er in käuflichen Pepsinpräparaten durch Erhitzen auf 80° das Pepsin zerstörte. Dann, indem er mit coaguliertem Eiweiss aus Pepsinlösungen das Pepsin absorbierte. Beidemale erhielt er so Antipepsin. Er folgert daraus, das jedes aus Magen hergestellte Pepsinpräparat Pepsin und Antipepsin enthält. Das auf diese beiden Arten gewonnene Antipepsin zeigte sich resistent gegen Temperaturen bis zu 100°.

Jochmann u. Kantorowicz[1]) bestätigen diese Funde. Den Einwand, dass die Alkalescenz des Serums die Hemmung bedinge, widerlegten sie durch entsprechende Ansäuerung. Auch dass das Pepsin durch das Serum nicht absorbiert werde, suchten sie folgendermassen zu beweisen: In dem Pepsin-Serumgemisch, das keine freie Salzsäure enthält, wird das Eiereiweiss 24 Stunden belassen. Das Scheibchen, darauf in verdünnte Salzsäure gelegt, wird verdaut, zum Beweis, dass noch freies Pepsin im Pepsin-Serumgemisch vorhanden war. Zwischen Pepsin und Antipepsin bestehen nach den Ergebnissen ihrer Versuche bestimmte quantitative Beziehungen: Gleiche Pepsinmengen bedürfen gleicher Antipepsinmengen zur Neutralisierung. Bei der Prüfung hinsichtlich der Thermostabilität zeigte sich, dass es wohl 2 verschiedene Antipepsine gebe, die charakterisiert seien eben durch ihr Verhalten gegen thermische Einflüsse. Das eine hat seine Vernichtungstemperatur bei 80°, das andere ist kochbeständig.

Die beiden Autoren suchten die hemmende Kraft des Serums auch quantitativ zu bestimmen. Zu diesem Zwecke stellten sie folgenden Versuch an:

Zu je 1 ccm künstlichem Magensaft (Pepsin 0,1%, HCl 0,25% in aq. dest.), dessen Verdauungskraft durch Kontrolle für jeden Versuch zu bestimmen ist, wird

[1]) Zeitschrift f. Klin. Med. Berlin 1908 p. 164.

steigend Serum gebracht. Die Hemmung der Verdauung tritt ein zwischen 0,4—0,8 Serumzusatz. Als Testobjekt dient ein Scheibchen coagulierten Eiweisses, das durch Ausstanzen aus einer mittels Doppelmessers geschnittenen Eiweisscheibe in stets gleicher Grösse hergestellt wird.

Eine Methode, quantitativ den Antipepsingehalt des Blutes zu bestimmen, hat Oguro[1]) ausgearbeitet. Sie gestaltet sich folgendermassen: Mehrere Reagenzgläser werden je mit 0,4 ccm Pepsinlösung (0,1 : 100,0) und in steigender Reihe von 0,1 bis zu 0,5 mit verdünntem Serum (1,0 ccm Serum: 9,0 ccm 0,85 % Na Cl) beschickt. Jedes Röhrchen wird mit 0,85 % Na Cl auf 2,4 ccm aufgefüllt und $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank gestellt. Dann kommt in jedes Röhrchen ein ca. bohnengrosses Stück Carminfibrin und 0,5 ccm $^n/_{10}$ HCl. Die ganze Reihe kommt für eine weitere $^1/_2$ Stunde in den Brutofen bei 37,0°. Darnach wird abgelesen. Es zeigt sich, dass in den Röhrchen, in denen auch nur minimale Verdauung stattgefunden hat, durch das frei gewordene Carmin die Flüssigkeit sich rot gefärbt hat, während in den übrigen dieselbe klar bleibt. Als Kontrolle kommt in ein Röhrchen an Stelle des $^1/_{10}$ Serum 0,85 % Na Cl. Oguro fand so, dass das Pferdeserum stärker antipeptisch wirkt, als Kaninchenserum, und dass die von ihm untersuchten Menschensera (epileptiforme Krämpfe, Nephritis, Urämie, Cauterie, Caflexurae sigmoideae, Caventriculi) ziemlich konstante Werte zeigten, nämlich zwischen 0,4—0,7 $^1/_{10}$ Serumansatz.

Diese Versuche wurden von Lieblein[2]) fortgesetzt. Er hat die Methode von Oguro benützt, jedoch statt mit Carmin seine Fibrinflocken mit „lichtgrün-gelblich“

[1]) Biochem. Zeitschrift, Berlin 1909.

[2]) Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie, Jena 1912 Bd. XXV, Heft 2.

(Dr. Schuchardt-Görlitz) gefärbt. Lieblein untersuchte hauptsächlich Fälle (16) von Ulcus ventriculi und fand grosse Inkonstanz des antipeptischen Index. Es zeigten sich neben abnorm hohen Werten abnorm niedere Werte. Zur Diagnosestellung in Fällen von Ulcus ventriculi oder Carcinom lässt sich also diese Antipepsinbestimmung nicht benützen. Zu dem gleichen Resultate gelangte auch in letzter Zeit Rubinstein.[1]) Er hat die Gelatineverflüssigungsmethode benützt, die ihm als die einfachste erscheint.[2]) Rubinstein beschäftigte sich auch eingehender mit dem Wesen des Antipepsins und fand, dass es seine Kraft beim Lagern auf Eis nicht verändert, dass es hitzebeständig ist (bis zu $^1/_2$ Stunde bei 56°), ja dass bei Temperaturen von 100° die antipeptische Kraft sogar zunimmt. Albumine und Globuline wirken antipeptisch, wenn auch erstere in schwächerem Grade. Ausser den Eiweisstoffen gibt es aber antipeptisch wirkende Serumsalze, so die Natriumkarbonate und die Phosphate. Die Lipoide sind nicht pepsinhemmend. Menschenserum verhält sich nach Rubinstein wie Pferdeserum.

Dass die antipeptische Kraft des Serums vielleicht auf einer Ablenkung des Pepsins von seinem Verdauungssubstrat durch die Eiweisskörper des Serums und nicht auf dem Vorhandensein eines echten Antipepsins beruht, das hat auch Hamburger[3]) angegeben. Er begründet

---

[1]) Recherches sur le pouvoir antipeptique du Sérum. Annales de l'institut Pasteur Jg. 27; Nr. 12, S. 1047—1092. 1903. Zitiert nach Zentralblatt f. d. ges. innere Medizin und ihre Grenzgebiete (Kongresszentralblatt) Bd. IX, Heft 8, Seite 525.

[2]) Eine Gelatineverflüssigungsmethode gibt Kantorowicz an in Münch. Med. Wochenschr. 1912 Nr. 46 Seite 2496. Sie ist eine Ausarbeitung der zuerst von Fermi angegebenen Plattenmethode.

[3]) Walter W. Hamburger, eine chem. biolog. Untersuchung über die Beziehungen des Pepsins zum sog. Antipepsin, Journal of

es damit, dass erhitztes Serum stärker hemmt als natives.

Serafina Dezani[1]) führt die antipeptische Wirkung des Serums zurück auf seinen Gehalt an Kalkphosphaten, die er mittels Dialyse vom Serum trennte. So erhielt er schwächeren antipeptischen Index des Serums. Nach Zusatz dieser Salze bekam das Serum wieder seine vorherige hemmende Kraft.

Alle diese Angaben erschöpfen natürlich die gesamte Literatur über das Antipepsin noch lange nicht. Sie sollen nur das bringen, was zu den folgenden Ausführungen in Beziehung steht. Fassen wir nun diese Literaturangaben zusammen, so erkennen wir, dass die Frage des Antipepsins noch nicht klar beantwortet ist. Soviel scheint festzustehen, dass es mehrere antipeptisch wirkende Stoffe gibt im Blutserum. Aber über deren Natur ist man sich noch nicht einig. Am meisten scheinen die Autoren der Meinung zuzuneigen, dass die antipeptische Wirkung auf dem Vorhandensein chemischer Antikatalysatoren beruht, vielleicht in Gestalt der im Blute vorhandenen Salze, vielleicht in Gestalt der bei der Eiweissverdauung gebildeten Eiweissabbauprodukte, vielleicht aber wirkt schon das im Serum enthaltene Eiweiss vermöge einer Absorption von Pepsin antipeptisch. Was vollends die quantitativen Bestimmungen anlangt, so geben sie für die Kenntnis des Antipepsins so gut wie für die Diagnosestellung für Ulcus ventriculi, Achylia etc. gar keinen Anhaltspunkt.

Durch Versuche, Antipepsin quantitativ zu bestimmen,

---

experiment. Medic. 14. 335—349; zitiert nach Jahresberichte über die Tierchemie 1912 Seite 268.

[1]) R. Accad. delle Scienze, Torino, Sitzg. v. 19. Febr. 1911. Labor. Mat. medica Torino; zitiert nach Jahresberichte über die Tierchemie 1912 Seite 303.

wurde ich darauf geführt, mich mit dem Wesen des Antipepsins und den quantitativen Methoden mehr zu beschäftigen. Man misst das Antipepsin am Pepsin. Man muss also für den einzelnen Versuch die Wirkungsweise und den Wirkungsgrad seiner Pepsinlösung unter den gegebenen Versuchsbedingungen studieren. Ich stellte also folgenden Versuch an:

Reagenzien hatte ich folgende:

Pepsin „Witte, Rostock" Lösung 0,3 : 100 aq. dest., $^1/_5$ normal-Salzsäure. Eiweisslösungen (Hühnereiweiss), ca. 10 % ca. 1 % und ca. 0,5 % (die Verdünnung geschah mit aqua dest.).

Als Indikator benützte ich Fibrinflocken, die mit Carmin gefärbt waren.[1]) Bei Anstellung der Versuche wurde darauf geachtet, dass in jede Probe jedesmal ungefähr gleichviel Fibrin — eine ca. bohnengrosse Flocke — gebracht wurde.

Versuch I.

Röhrchen	P[2])	n/5 HCl	je 4 ccm		nach 3/4 Std.	nach 1 3/4 Stunden			nach 2 3/4 Stunden		
1	1,0	1,0	aq. dest.	Fibrin	I		II			III	
2	1,0	1,0	0,85 NaCl	Fibrin	0		I			II	
3	1,0	1,0	0,85 NaCl		Fibrin		I			I	
4	1,0		0,85 NaCl		Fibrin + 1,0 HCl		I			I	
			E = Eiweisslösung			E=10 %	E=1 %	E=0,5 %	E=10 %	E=1 %	E=0,5 %
5	1,0	1,0		Fibrin	0	0 a)	0 – Ic)	I	0 a)	I	II
6	1,0	1,0			Fibrin	0 a)	0	I	0 [1])	II	II
7	1,0				Fibrin + 1,0 HCl	0 b)	0	0	0 b)	0	I

[1]) Nach den Ergebnissen, die ich mit den mit „lichtgrüngelblich" gefärbten Fibrinflocken erhielt, muss ich dem Carmin unbedingt den Vorzug geben, da es sich herausstellte, dass stark verdünnte Lösungen jenes Farbstoffes, wie sie bei den Versuchen

Zeichenerklärung:

O = keine Rotfärbung d. Fekt. = keine Verdauung.
I = schwache „ „ „ = schwache „
II = deutliche „ „ „ = deutliche „
III = ganze Fibrinflocke gelöst.
a) = wenig weisser Bodensatz.
b) = ca 1 ccm weisser Bodensatz.
c) = etwas rötlich-weisser Bodensatz.

Röhrchen 1—4 wurde je 3 mal in genau derselben Weise angesetzt. Ich erhielt so 3 mal das gleiche Resultat.

In jedem Versuche beträgt die Pepsinkonzentration 0,5 %, befindet sich also innerhalb des Konzentrationsoptimums für Pepsin (0,5 – 0,01 % nach Klug).[3]) Die HCl-Konzentration beträgt, soweit sie nicht etwa durch alkalische Stoffe des Hühnereiweisses gebunden wird, ca. 1,2 %.

Was man aus dem Versuche ersieht, ist einmal die bekannte Tatsache, dass Na Cl hemmend wirkt auf die Pepsinverdauung, wie fast alle anorganischen Salze.[4]) Besonders deutlich ersieht man aber, dass die Anwesenheit von Eiweiss das Ferment hindert, die Fibrinflocke zu spalten. Und zwar scheint diese antipeptische Wirkung umso grösser zu sein, je mehr Eiweiss gelöst anwesend ist. So zeigen die Röhrchen 1—4 sämtlich Verdauung schon nach 1 Stunde, während nach Verlauf einer weiteren Stunde erst die Röhrchen 5—7, die mit

vorkommen, durch 0,3 % HCl nach kurzer Zeit entfärbt werden. Erst, wenn die Farbstoffkonzentration einen etwas höheren Grad erreicht hat, bleibt die Farbe bestehen, verschwindet aber auch dann, wenn die Proben offen längere Zeit stehen bleiben.

[2]) P = 0,3 % Pepsinlösung, ebenso in den folgenden Versuchen

[3]) Siehe Oppenheimer, die Fermente und ihre Wirkungen, Leipzig 1913 Bd. II Seite 996.

[4]) Siehe Oppenheimer Seite 533, l. c.

0,5 % Eiweisslösung aufgefüllt waren, deutliche Rotfärbung zum Zeichen eingetretener Verdauung der Fibrinflocke erkennen liessen. Von den mit 1 % Eiweisslösung beschickten Röhrchen zeigten Röhrchen 5 und 6 deutlich stärkere Hemmung, die am stärksten und klarsten bei sämtlichen 3 Röhrchen, die mit 10 % Eiweisslösung beschickt waren, zutage tritt, indem hier fast jede Spur von Verdauung fehlt. Ebenfalls nur ganz gering war die Verdauung in Röhrchen 7 der 1 % Eiweisslösung. Diese Versuchsresultate und ihre Deutung können natürlich angefochten werden; denn es liegt auf der Hand, dass mit der steigenden Eiweisskonzentration auch die Konzentration der im Hühnereiweiss enthaltenen Salze steigt und man könnte behaupten, dass eben diese Salze es seien, die die Hemmung bewirken. Fernerhin ist dieser Versuch viel zu grob, da die Abstufung der Eiweisskonzentration (10—1—0,5 %) viel zu sehr fällt und 10 % Eiweiss für 0,5 % Pepsin und 0,12 % HCl für die Zeit von 2 3/4 Stunden ein zu ungleiches Verhältnis vorstellt. Im folgenden Versuche wird also mit grösserer Eiweissverdünnung und zwar mit Verdünnungen nativen und 24 h gegen das 50 fache Volumen destillierten Wassers dialysierten Eiweisses aufzufüllen sein und endlich wird statt $^{n}/_{5}$ HCl $^{n}/_{2}$ genommen, der ein Gehalt von 1,8 % HCl, im Versuche von 0,3 % entspricht.

Versuch II.

Anordnung.

Röhrchen	P.	n/2 HCl	Aufgefüllt mit	Fibrinflocke	nach 1/2 Stunde
1	1,0	1,0	4,0 ccm je nach Probe A-H	Fibrinflocke	
2					Fibrin
3					Fibrin + 1,0 HCl

Aufgefüllt wurde:

A. mit destilliertem Wasser
B. „ 0,85 % NCl
C. „ 2,0 „ Eiweisslösung, a nativ, b dialysiert
D. „ 1,5 „ „ „ „
E. „ 1,0 „ „ „ „
F. „ 0,75 „ „ „ „
G. „ 0,50 „ „ „ „
H. „ 0,25 „ „ „ „

Das Resultat war folgendes:

	nach 1 Stunde						nach 1 weiteren Stunde					
	a			b			a			b		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	II	II	II				III	III	III			
B	0—I	0	0				I	I	I			
C	0(—)I	0	0	I	I	0						0(—I)
D	0(—)I	0	0	I	I	0(—I)						I
E	0—I	(0—)I	0	I	I	0						0(—I)
F	0—I	I	0	I	I	0(—I)	I	I	I	II	II	0—I
G	I	I	I	I	I	0						I—II
H	I	I	I	I	I	I						I—II

Auch dieser Versuch zeigt wie der vorige die hemmende Wirkung des Chlornatriums. Ferner zeigt er auch, dass mit zunehmender Eiweisskonzentration die Hemmung zunimmt. Es tritt auch ein Unterschied zutage je nachdem natives oder dialysiertes Eiweiss benützt wurde.

Aus den Resultaten nach der 1. Stunde ersieht man, dass, nachdem die hemmenden Serumsalze im dialysierten Eiweiss entfernt sind, das Pepsin die Fibrinflocke besser aufzulösen vermag (vergl. Resultate 1 a und 2 a mit 1 b

und 2b). Nach der 2. Stunde hat sich dieser Unterschied ziemlich gehoben; dagegen tritt hier deutlicher zutage als nach der 1. Stunde, dass das Ferment sich von dem in Lösung beigefügten Eiweiss absorbieren lässt und zwar umsomehr, je mehr die Salze entfernt sind. Auch hängt die antipeptische Hemmung davon ab, ob die Salzsäure sogleich zur Probe zugesetzt wird, oder ob man dem noch inaktiven Ferment erst Zeit lässt, sich mit dem „Antiferment" zu binden. (Vergl. die Resultate 3a und 3b nach der 1. Stunde mit 3a und 3b nach der 2. Stunde, und vergleiche diese mit den jeweils entsprechenden von 1 und 2). Diese selbe Erscheinung zeigt sich auch sehr deutlich im Versuch I.

Es hat Nachteile, wenn man die Fibrinmethode benützt, nämlich die, dass die Oberfläche des angebotenen Fibrins nie in allen Röhrchen die gleiche ist, während des Versuches infolge der Verdauung sich ändert, und dass das Pepsin nur in dem Teile des Reagenzröhrchens die Fibrinflocke anzugreifen vermag, wo diese sich eben befindet. So bleibt das andere Pepsin von der Wirkung ausgeschlossen. Es schien deshalb ratsam, als Testobjekt gelöstes Eiweiss zu benützen. Ich griff also zur Hammerschlag'schen Pepsinbestimmung mittels Caseinlösung. Dieselbe wurde nach folgendem Rezept bereitet:

0,2 g Casein (Hammarsten) wurde in ca. 20 ccm destilliertem Wasser + 5 ccm $^{n}/_{10}$ NaOH unter gelindem Erwärmen gelöst. Hierauf wurde 3 ccm $^{n}/_{10}$ HCl zugegeben, sodass die Flüssigkeit neutral bis schwach sauer reagierte, und das ganze auf 50 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Man erhält so eine 0,4 % schwach opaleszierende neutrale und salzarme Caseinlösung (nicht ganz 0,6 % Na Cl).

In jedem der folgenden Versuche wurde die Verdauungskraft der Pepsinlösung an der Caseinlösung be-

stimmt, und zwar unter denselben Bedingungen wie sie bei den folgenden Versuchen bestanden. Die Probe gestaltete sich wie die folgende Tabelle zeigt:

Ringprobe mit konzentr. $CH_3 COONa + CH_3 COOH$ zeigt das Vorhandensein noch unverdauten Caseins an.

0,4% Cas.	aqua dest.				Ringprobe
ccm	ccm				
0,1	3,9				—
0,2	3,8				—
0,3	3,7				—
0,4	3,6				—
0,5	3,5				—
0,6	3,4				—
0,7	3,3				—
0,8	3,2				+
0,9	3,1				+
1,0	3,0				+
		je 1,0 ccm 3% Pepsinlösung	je 1,0 ccm n/2 HCl	eine halbe Stunde in den Brutschrank	

Die eingetretene komplette Verdauung des Casein zeigte sich dadurch an, dass bei Unterschichtung der ganzen Probe mit konzentrierter Lösung von Natriumacetat in Essigsäure nach mindestens 5 Minuten kein Ring auftrat. Die Natriumacetatlösung hat zugleich den Vorteil, dass sie mit Serum- und Hühnereiweiss nicht reagiert. Im obigen Versuch wäre also die komplett verdaute Dosis = 0,7, d. h. 0,7 ccm 0,4% Caseinlösung werden in 6 ccm 0,5% Pepsin innerhalb einer gewissen Zeit, $^1/_2$ Stunde, vollkommen verdaut. Bei allen weiteren Versuchen wird der Grad der Pepsinwirkung als V. D. (= verdaute Dosis) angegeben.

Die folgenden Versuche sollen nun den Einfluss des Eiweissgehaltes des Blutserums auf die Antipepsinbestimmung zeigen.

Versuch III.

Eine Menge Schweineserum wurde in 2 Teile geteilt. Der eine Teil wurde 48 h gegen das ca. 50 fache Volumen destillierten Wassers dialysiert. Dann wurde von beiden Teilen mittels Kjeldahl der Eiweissgehalt bestimmt und auf 4 % Eiweissgehalt mit destilliertem Wasser verdünnt. Abgelesen wurde nach $^1/_2$ Stunde.

									E = 4 ‰ Schweineserum			
									nativ		dialysiert	
Röhrchen	E	aq. dest.		P		Casein	aq. dest.	n/2 HCl	A	B erhitzt	C	D erhitzt
1	0,1	0,9	B & D 10 Min. auf 100° erwärmt	1,0	½ Std. in dem Brutschrank bei 38°	0,6	2,4	1,0	schwach + (−)	+ +	+ (−)	+ +
2	0,2	0,8		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
3	0,3	0,7		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
4	0,4	0,6		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
5	0,5	0,5		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
6	0,6	0,4		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
7	0,7	0,3		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
8	0,8	0,2		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
9	0,9	0,1		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+
10	1,0	0,0		1,0		0,6	2,4	1,0	+	+	+	+

Die verdaute Dosis (V. D.) betrug 0,7 ccm Casein. Es befand sich also im Röhrchen 1 im ganzen nicht mehr Eiweiss, als in Form von Casein in $^1/_2$ Stunde in der Kontrolle ganz verdaut werden konnte und doch zeigte Röhrchen 1 bei allen 4 Proben Hemmung. (Das + Zeichen bedeutet, dass nach Unterschichtung mit essigsaurer Natriumacetatlösung innerhalb 5 Minuten Ringbildung eintrat). Zwischen dialysiertem und nicht dialysiertem Serum zeigte sich also kein Unterschied; wohl aber war bei beiden der Ring bei der erhitzten Probe (B u. D) ungleich stärker als bei A und C, der

nicht erhitzten Probe. Das wäre also ein Beweis für die eingangs aus der Literatur angeführten Angaben, dass das Antipepsin durch die Hitze in seiner verdauungsschützenden Kraft sogar gesteigert werde. Denselben Versuch setzte ich auch mit 4 % Hühnereiweisslösung an und erhielt auch hier das gleiche Resultat: Es zeigte sich in dieser Anordnung zwischen dialysiertem und nicht dialysiertem Eiweiss kein Unterschied, wohl aber zwischen erhitztem und nicht erhitztem.

Zur genauen Kontrolle dieser Resultate wurde folgender Versuch gemacht: Es wurde die verdauungshemmende Kraft an der Menge des nicht verdauten Caseins bestimmt:

Versuch IV. V. D. = 0,5.

								E = 0,4 % Schweineserum				E = 0,4 % Hühnereiweisslösung			
								nativ		dialysiert		nativ		dialysiert	
Röhrchen	E	aqua dest.		P		Cas.	aqua dest.	n/2 HCl	A	B erhitzt	C	D erhitzt	A	B erhitzt	C	D erhitzt
1	0,1	0,9	Reihe B u. D 10 Min. auf 100° erhitzt,	1,0	½ Stunde in den Brutofen bei 38°	0,1	2,9	1,0	—	+	—	+	—	+	—	+
2	0,1	0,9		1,0		0,2	2,8	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,1	0,9		1,0		0,3	2,7	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0,1	0,9		1,0		0,4	2,6	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0,1	0,9		1,0		0,5	2,5	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+

Das Röhrchen 2 enthielt also jeweils 0,1 ccm 4 % Eiweiss + 0,2 ccm 4 % Casein würde also im Vorversuch einem Gesamteiweissgehalt entsprechen, wie es das Röhrchen 3, das 0,3 ccm 4 % Casein enthielt. Es müsste also, wenn keine Hemmung sich zeigen würde, das Röhrchen 2 noch keine positive Ringprobe mittels essigsaurer Natriumacetatlösung zeigen. Es war aber schon in Röhrchen 2 die Verdauung des Caseins nicht mehr vollständig, und zwar im nichterhitzten war die

Verdauung immerhin stärker als im entsprechenden erhitzten Röhrchen, wie man aus dem Vergleich der Resultate in Röhrchen 1 noch deutlicher ersieht. Der Versuch zeigt also, dass sowohl Serumeiweiss als auch Hühnereiweiss hemmen und zwar sowohl nicht dialysiertes, als auch dialysiertes, und dass durch Erwärmen die antipeptische Kraft erhöht wird.

Diesem verschiedenen Verhalten der antipeptischen Wirkung des Serums je nach vorausgegangener Behandlung gingen die folgenden Versuche nach. Es wurde das Hühnereiweiss und das Serumeiweiss selbst als Verdauungssubstrat benützt.

Nachdem die Proben $^1/_2$ Stunde im Brutofen gestanden, wurde die Ringprobe ausgeführt durch Unterschichten einer starken ca. 20 % Salpetersäurelösung. Der Ring musste innerhalb 5 Minuten auftreten.

Versuch V. V. D. = 0,6.

					E = 0,4 % Hühnereiweisslösung				E = Schweineserum mit 0,4 % Eiweissgehalt			
					nativ		dialysiert		nativ		dialysiert	
Röhrchen	E	aqua dest.	P	n/2 HCl		erhitzt		erhitzt		erhitzt		erhitzt
1	0,1	3,9	1,0	1,0	—	—	—	—	—	+ schwach	—	—
2	0,2	3,8	1,0	1,0	—	+	—	—	—	+	—	+
3	0,3	3,7	1,0	1,0	—	+	—	+ schwach	+ schwach	+	—	+
4	0,4	3,6	1,0	1,0	+	+	+	+	+	+	—	+
5	0,5	3,5	1,0	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+

Vergleicht man diese beiden Resultate, so ersieht man, dass die beiden Eiweissarten nativ ziemlich die gleichen Anforderungen an die sie verdauende Pepsinlösung stellen. Diese Anforderung wird aber erhöht, wenn die vorgelegten Eiweissarten erwärmt werden. Fast gar kein Unterschied besteht zwischen dem dialy-

sierten und nicht dialysierten Hühnereiweiss, während er bei dem Serumeiweiss deutlich zutage tritt. Die stärkere Hemmung des erhitzten Eiweisses lässt sich vielleicht dadurch erklären, dass dasselbe durch die Hitze denaturiert und in einen anderen Eiweisskörper übergeführt wird, der zur Aufspaltung dann mehr Pepsin benötigt. Die geringe Widerstandskraft des nicht erhitzten dialysierten Serumeiweisses beruht auf dem Fehlen der Serumsalze. Beim Hühnereiweiss ist der Unterschied nicht so gross, weil hier die Verdünnung des nativen Eiweisses schon eine viel grössere ist als die des nativen Serums und deswegen auch das native Eiweiss schon weniger Salze enthält. Dass die Serumsalze allein pepsinhemmend wirken, zeigt

Versuch VI:

3000 ccm Dialysat, gewonnen durch 24 stündiges Dialysieren von 20 ccm Hundeserum gegen destilliertes Wasser, wurden auf 100 ccm auf dem Wasserbade eingeengt und damit verfahren, wie aus der Tabelle ersichtlich:

V. D. = 0,8.

Röhrchen	Dialysat	Casein	aqua dest.	P	n/2 HCl	Ringprobe nach 1/2 Std. Stehen im Brutofen
1	1,0	0,1	2,9	1,0	1,0	—
2	1,0	0,2	2,8	1,0	1,0	—
3	1,0	0,3	2,7	1,0	1,0	—
4	1,0	0,4	2,6	1,0	1,0	+
5	1,0	0,5	2,5	1,0	1,0	+

Man sieht also die relativ stark hemmende Kraft der Serumsalze. Es ist zu berücksichtigen, dass hier die Pepsinlösung eine stärkere Wirksamkeit besass als in Versuch V a und b. (V. D. = 0,8).

Bei allen bisherigen Versuchen ist es auffallend, dass der „Hemmungskörper“, abgesehen von den Salzen, sich auch im Hühnereiweiss findet. Ein Grund für das Vorhandensein eines Antipepsins im Hühnerei lässt sich schlechterdings nicht gut einsehen. Im Gegenteil, das Hühnereiweiss ist ja, wenn man sich auf teleologischen Standpunkt stellen will, dazu da, um verdaut zu werden, sei es vom Hühnchenembryo oder auch von denen, denen die Eier zur Nahrung dienen. Zudem, wie sollte Antipepsin ins Hühnerei kommen, da es ja auch kein Pepsin enthält? Sollte aber tatsächlich ein Antiferment sich im Hühnerei finden, dann wäre wohl nur der Schluss möglich, dass eben das Ei die Stoffe, aus denen es sich bildet, dem mütterlichen Organismus entnimmt. Im mütterlichen Blute befindet sich Antipepsin und auf diesem Wege gelangt das Antiferment auch in das Ei.

Es muss aber auch eine andere Frage aufgeworfen werden und diese lautet: Enthält überhaupt jede Eiweisslösung, die hemmend wirkt, ein Antiferment?

In einem chemisch gereinigt dargestellten Eiweisspräparat darf man wohl vermuten, dass das Antiferment fehlt.

Ich nahm „Albumin aus Blut depuratum“ (Merk, Darmstadt) 0,2 g und löste sie durch Schütteln in 50 ccm destilliertem Wasser. Der Versuch wurde genau so angestellt wie Versuch IV und ebenfalls nach $^1/_2$ Stunde abgelesen. Und nun zeigte sich dasselbe Resultat:

Versuch VII. V. D. = 0,6.

Röhrchen	E	aqua dest.		P		Casein	aqua dest.	n/2 HCl	A	B erhitzt
1	0,1	0,9	Reihe B 10 Minuten auf 100° erhitzt	1,0	½ Stunde im den Brutofen bei 38°	0,1	2,9	1,0	—	+
2	0,1	0,9		1,0		0,2	2,8	1,0	+	+
3	0,1	0,9		1,0		0,3	2,7	1,0	+	+

Also auch das Eiweiss, das wohl sicher kein Antiferment enthält, hemmt die Pepsinverdauung und auch dieses hat stärkere antipeptische Kraft, wenn man es erhitzt hat. Somit wird die Existenz eines wirklichen Antipepsinfermentes zum mindesten fraglich. Man müsste höchstens der Meinung sein, dass jedes Eiweiss, das vor dem Pepsin nicht sogleich in seine Bausteine zerfällt, Antipepsin enthält.

Über die Natur dieser Hemmung lassen sich nur Vermutungen anstellen. Es scheint, dass das Pepsin von dem Eiweiss absorbiert werden kann. Jochmann u. Kantorowicz[1]) glaubten zwar beweisen zu können, dass das nicht der Fall ist. Sie machten folgenden Versuch: Ein Scheibchen coagulierten Hühnereiweisses wurde in Pepsin-Serumgemisch 24 Stunden belassen (Angaben über die Mengenverhältnisse in jenem Gemisch fehlen); darnach wird das Eiweiss in Salzsäure gebracht, wo es verdaut wird zum Zeichen, dass das Pepsin sich nicht an das Serumeiweiss gebunden hat. Müsste es genauer vielleicht nicht heissen „nicht nur sich gebunden hat"? Ich habe diese Versuche nachgemacht und zwar in 2facher Anordnung:

I. In dem Pepsin-Serumgemisch (1,0 ccm 3% Pepsin + 1,0 ccm 10fach verdünntes Serum + 4,0 ccm H_2O) wurde eine Carminfibrinflocke 24^h belassen, darnach auf Fliesspapier getrocknet und in 6 ccm $^n/_{10}$ HCl gebracht. Nach 24 Stunden zeigte sich schwache Verdauung.

II. Die Fibrinflocke kam erst in das Serum-Pepsingemisch, nachdem dasselbe ca. 12 Stunden im Brutschrank gestanden. Nach 24^h wurde die Flocke wie oben angegeben in Salzsäure gelegt und nach weiteren 24 Stunden abgelesen: Es zeigte sich keine Verdauung.

[1]) Siehe oben.

Die Proben blieben 10 Tage in dem im Sommer sehr warmen Laboratorium stehen. Nach dieser Zeit zeigte sich bei der 1. Probe eine Zunahme der Verdauung, jedoch nicht so, dass die ganze Flocke verdaut wurde, bei der 2. Probe eine leichte Rotfärbung zum Zeichen, dass noch Verdauung eingetreten war, jedoch in deutlich viel geringerem Grade, als bei der Probe I. Es kommt also darauf an, das Pepsin für sich erst auf das Serumeiweiss einwirken zu lassen.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass es sich um eine Adsorption des Pepsins durch das Serum handle. Das Pepsin geht mit dem Serumeiweiss eine wieder lösbare Bindung ein, d. h. im Pepsin-Serumgemisch bindet sich Pepsin an das Serumeiweiss und erst wenn noch anderes Eiweiss als Verdauungssubstrat hinzukommt, löst ein Teil des Pepsins diese Bindung und heftet sich an das neu hinzugekommene Eiweiss. Dieses erhält weniger Pepsin, als wenn es zusammen mit dem Serumeiweiss zu gleicher Zeit mit dem Pepsin zusammengebracht worden wäre. Erst nach längerer Zeit hat das Pepsin sich in gleicher Menge an das neue Eiweiss gebunden. Somit wäre auch eine Erklärung dafür gegeben, dass der „Fibrinschutz“ nicht eine absolute Hemmung, sondern eine Verzögerung der Pepsinwirkung bedeutet, worauf schon Weinland und Schwarz hingewiesen haben.

Ein anderes beachtenswertes Moment ist das der Hitzebeständigkeit, respektive sogar der stärkeren Aktivierung durch Hitze. Diese Beobachtung wurde schon von mehreren Autoren[1]) gemacht. Eine Erklärung suchte ich in der Veränderung zu geben, die die Eiweisskörper durch das Erhitzen erfahren. Schwarz schreibt;

---

[1]) Siehe oben!

„Dass sich unter den im normalen Tierkörper vorgebildeten Hemmungskörpern auffällig viel hitzebeständig finden, während die Immunisierung zu homologen, aber thermolabilen Körpern führt, weisst auf eine noch verborgene Regelmässigkeit bei der Entstehung dieser Körper hin.“

Daraus ist zu entnehmen, dass der durch Behandlung eines Versuchstieres mit Pepsininjektionen erhaltene Hemmungskörper keine Hitzebeständigkeit zeigt. Somit dürfte also die Ansicht von Jochmann u. Kantorowicz, wonach es 2 verschiedene durch ihr Verhalten gegen thermische Einflüsse charakterisierte Antipepsine gäbe, zu Recht bestehen; nur scheint das thermostabile kein Ferment zu sein, sondern eben nur Eiweiss und Salze. Es scheint, dass das von Schwarz durch Erhitzen von Pepsinlösungen erhaltene Antipepsin eben auch nur auf der Umwandlung des wirksamen Pepsines in Eiweiss und die dem käuflichen Pepsin anhaftenden Salze beruht. Schwarz selbst schreibt:

„Die meisten käuflichen Pepsinpräparate sind coagulable Eiweisskörper, Zellbestandteile und anorganische Salze, eventuell auch Albumosen und andere Verdauungsprodukte.“

Und somit ist vielleicht auch das durch Adsorption mittels Eiweiss aus Pepsinlösungen gewonnene Antipepsin eben auch nur Pepsin — wirksames Pepsin, d. i. Zellbestandteile, anorganische Salze, eventuell auch Albumosen und andere Verdauungsprodukte, also Substanzen, deren pepsinhemmende Wirkung erwiesen ist.

Meine Versuche erstrecken sich nur auf das normalerweise im Blutserum vorkommende Antipepsin, haben also mit dem „Pepsinantikörper“, der durch aktive Immunisierung gewonnen wird, nichts zu tun. Ebenso ist die Identität mit dem Weinland'schen Hemmungs-

körper, der sich in den Darmparasiten findet, noch fraglich, was ja die Hitzebeständigkeit gegenüber dem Weinland'schen Antipepsin zeigt.

Nun noch einige Erörterungen über die quantitative Pepsinbestimmung, wie sie Jochmann und Kantorowicz, Oguro und Lieblein vorgenommen haben. Die Methoden sind oben erwähnt worden. Aus meinen Vorversuchen zu den Versuchen III—VII ist zu ersehen, dass die stets frisch und mit möglichster Genauigkeit bereitete Pepsinlösung in ihrer verdauenden Kraft Schwankungen von 0,5—0,8 aufweist (d. h. 1 ccm 3% Pepsinlösung verdaute je nach Stärke 0,5—0,8 ccm 4% Casein in 6 ccm innerhalb $^1/_2$ Stunde).

Würde ich also die verdauende Kraft nur mittels der Fibrinflockenmethode bestimmt haben, so hätte ich nur erfahren, dass meine Pepsinlösung wirksam ist, von dem Grade aber wäre ich nicht unterrichtet worden. Es ist klar, dass, wenn der Angreifer schwächer ist, der Verteidiger leicht als stärker erscheinen kann, man misst ihn ja am Angreifer. Bei den oben erwähnten Autoren findet sich keine Angabe über den Grad der verdauenden Wirkung. Es ist eben noch nicht gelungen, ein Ferment an sich vollkommen rein darzustellen, es enthält jedes mehr oder weniger Ballast; darum sind die Wirkungen zweier quantitativ gleich hergestellten Lösungen aus dem gleichen Präparat graduell oft sehr verschieden. Vielleicht auch deswegen, dass das an der Oberfläche liegende Pepsin durch die Laboratoriumsluft Zersetzungen ausgeliefert ist und darum schwächer wirkt (meine Erfahrungen scheinen dafür zu sprechen). Dagegen ist es gelungen, z. B. Casein rein darzustellen und, wenn man sich an ein genaues Rezept hält, wird man auch immer eine gleiche Lösung sich bereiten können. Man hat dann doch auch eine Konstante, an

der man die anderen Unkonstanten prüfen und bestimmen kann. Das hat auch den Vorteil, dass mehrere Forscher getrennt voneinander Bestimmungen ausführen und ihre Resultate dann miteinander vergleichen können.

Ein zweites wichtiges Moment ist folgendes:

Wir haben gesehen, wie gross die Hemmung ist, die schon 0,4 mg Eiweiss in 6 ccm auszuüben vermag (vergl. Versuch VII), das bedeutet im Versuch $\pm$ 0,067%. Nun schwankt der Eiweissgehalt im Blutserum beim Menschen nach Hammarsten[1]) zwischen 5,5 und 8,4% und in Noordens Pathologie des Stoffwechsels[2]) finden sich Stickstoffzahlen bei Blutkrankheiten angegeben, nach welchen bei Chlorose die Eiweisswerte zwischen 4,9 und 8,0%, bei sekundären Anämien zwischen 7,1 und 7,7%, bei perniziöser Anämie zwischen 5,3 und 7,0% schwanken. Man ersieht also, der Eiweissgehalt des Blutserums ist kein konstanter und schwankt innerhalb einer Grenze von ca. 3%. Das haben die Untersucher bei Anstellung ihrer Proben ausser Acht gelassen. Sie verdünnen ihr Serum auf das 10 fache, wodurch die Eiweisswertschwankungen erst auf eine Grenze von 3% herabsinken und im Versuch, wenn im ganzen auf 4 ccm aufgefüllt wird, selbst wenn nur 0,1 ccm 10 fach verdünntes Serum benützt wird, auf eine Grenze von 0,075%. Ausserdem füllen diese Autoren auch mit Na Cl-Lösung auf, die wieder hemmend wirkt. Das sind Fehlerquellen, die unbedingt Berücksichtigung erfordern und vielleicht sind sie sie Ursache, dass die meisten Autoren die quantitative Antipepsinbestimmung für die Stellung einer klinischen Diagnose als wertlos erachten. Sollte sich aber im Blutserum dennoch Atipepsinferment finden und dieses bei verschiedenen Krankheitszuständen wechseln,

[1]) physiolog. Chemie, Wiesbaden 1904.

[2]) Berlin 1906 Bd. 1 Seite 938.

so wäre die quantitative Bestimmung erst von diagnostischem Wert, wenn sie berücksichtigt:

1. den Wirkungsgrad der verwendeten Pepsinlösung,
2. die Hemmung, die durch die Serumsalze bedingt wird.
3. die Hemmung, die durch die Menge des Serumeiweisses als solches bedingt wird.

Lebenslauf.

Ich Eugen Theodor Burger, bayer. Staatsangehöriger, bin am 3. April 1888 zu Geroldsgrün B.-A. Naila als Sohn des damaligen k. b. Forstmeisters Julius Burger in Geroldsgrün geboren, der 1897 nach Ansbach versetzt wurde und dortselbst 1908 starb.

Nach Besuch der Volksschulen Geroldsgrün und Ansbach und der humanistischen Gymnasien Ansbach und Weiden i. Oberpfalz erwarb ich mir im Juli 1909 das Reifezeugnis am humanistischen Gymnasium in Weiden.

Hierauf besuchte ich die Universitäten München 3, Heidelberg 3, München 1 und Würzburg 3 Semester. Die ärztliche Vorprüfung habe ich im Februar 1912 in Heidelberg bestanden. Am 5., 6., und 7. August 1914 legte ich in Würzburg die ärztliche Notprüfung ab.

Seit 1. Oktober bin ich als Unterarzt dem Ersatz-Bataillon des 23. Infanterie Regiments in Kaiserslautern zugeteilt.

Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung des Herrn Professor Dr. Gerhardt in Würzburg verfasst.

Kaiserslautern, den 6. Dezember 1914.

Eugen Burger.